The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

| | |
|---|---|
| Title | Extraction and analysis of carcinoembryonic antigen in lymph nodes : a new approach to the diagnosis of lymph node metastasis of colorectal cancer |
| Author(s) | 加納, 寿之 |
| Citation | 大阪大学, 2002, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/44540 |
| rights | |
| Note | 著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。 |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

氏　　名　加納寿之（かのうとしゆき）

博士の専攻分野の名称　博　士（医　学）

学位記番号　第　17203　号

学位授与年月日　平成14年5月15日

学位授与の要件　学位規則第4条第2項該当

学位論文名　Extraction and analysis of carcinoembryonic antigen in lymph nodes : a new approach to the diagnosis of lymph node metastasis of colorectal cancer
（リンパ節中のCEA抽出とその解析-大腸癌リンパ節転移診断に対する新しいアプローチ）

論文審査委員　（主査）
教　授　門田　守人

（副査）
教　授　青笹　克之　　教　授　野口眞三郎

## 論文内容の要旨

（目的）悪性腫瘍のリンパ節転移は病理組織学的に診断されているが、微小転移や細胞単位の転移は見逃される危険性が高い。この問題に対して最近では免疫染色による検討や分子生物学的手法による転移判定が注目されている。しかし、これらの手法は比較的複雑で、一般病院では行いにくい難点を有している。そこで本研究では、より簡便な方法を開発すべく、リンパ節中の腫瘍マーカー測定による転移判定を検討した。すなわち大腸癌細胞に普遍性高く発現しているCEAに着目し、リンパ節中のCEAを抽出・定量して転移判定を行うことを目的とした。

（方法ならびに成績）

1）リンパ節からの蛋白抽出

リンパ節を生理食塩水に浸漬し拡散させることで、CEA測定が可能なだけの蛋白を抽出できるかを検討した。大腸癌新鮮切除標本から摘出した計236個のリンパ節を200 μlの生理食塩水中に2時間浸漬したところ、平均3,249 μg/ml（568～7,030 μg/ml）と十分量の蛋白が抽出できた。また、63個のリンパ節については、半割して1 mlの生理食塩水中に浸漬させたが、抽出時間15分で平均1,150 μg/mlの蛋白を抽出することができた。

2）リンパ節抽出液中CEA値と病理組織学的診断との比較

2時間浸漬後のリンパ節は通常の病理組織学的検討を行い、33個が転移陽性で203個は陰性と診断された。転移陽性33個の抽出液中CEA値は、平均656 ng/mg protein（8.3～8,619 ng/mg protein）であった。一方、転移陰性203個のCEA値は平均18.2 ng/mg protein（0.9～296 ng/mg protein）で、ばらつきがあるものの、抽出液中の平均CEA値は転移陰性リンパ節に比べて転移陽性リンパ節で有意に高い値を示した（$p<0.0001$）。

3）リンパ節抽出液中CEA値とRT-PCR（CEA mRNA）の比較

半割した63個のリンパ節の一方は通常の病理組織学的診断を行い、他方はRT-PCR（CEA mRNA）を行った。病理組織学的に陽性であった19個のリンパ節はRT-PCRでも全て陽性であった。病理組織学的に陰性の44個のリンパ節のうち42個はRT-PCRでも陰性であったが、残り2個はRT-PCRで陽性であった。病理組織学的診断およびRT-PCRのいずれも陽性であったリンパ節の抽出液中CEA値は平均1,004 ng/mg proteinで、いずれも陰性の平均

18.0 ng/mg protein に比べて有意に高かった（$p<0.0001$）。また、病理組織学的には陰性で RT-PCR で陽性であった２個のリンパ節の抽出液中 CEA 値は 515、61,971 ng/mg protein といずれも極めて高値を示した。

（総括）

血中の CEA 値は大腸癌の術前ステージングや術後モニタリングの有用な指標として臨床応用されているが、リンパ節中の CEA 値を転移判定の指標として検討した研究報告はない。本研究では、まず大腸癌所属リシパ節を生理食塩水に浸漬するのみで十分な蛋白量を抽出できることを明らかにした。

抽出液中 CEA 値が血中 CEA 値を反映していることも考えられたが、転移陽性リンパ節の抽出液中 CEA の平均値は血中より明らかに高値であることや、症例ごとに所属リンパ節のマッピングをしてみても転移陽性リンパ節は近隣の転移陰性リンパ節に比べて極端に高い CEA 値を示すものが多いことなどから、測定された値は血中の CEA ではなくリンパ節局所で産生された CEA を反映していると考えられた。また、リンパ節を半割して浸漬することで抽出効率を高め、抽出時間を 15 分まで短縮したうえで、CEA mRNA の RT-PCR 法の結果と対比した。その結果、病理組織学的に転移陰性と判定されたリンパ節のうち２個が RT-PCR で陽性となり、それらのリンパ節は極めて高い CEA 値を示した。このことは、リンパ節中の CEA の測定が微小転移の存在を診断しうる可能性を示すものとして理解される。

本研究で示されたリンパ節中 CEA 抽出測定による大腸癌の転移診断法は、①手技が簡便である、②材料となるリンパ節を無傷で回収できる、③病理診断では発見しにくい微小転移も拾い上げる可能性がある、などの点で極めて有用な新しい手法であると考えられた。

## 論文審査の結果の要旨

癌のリンパ節転移は病理組織学的に診断されているが、微小転移は見逃される危険性がある。最近では免疫染色や分子生物学約手法による転移判定が注目されているが、一般病院では行いにくい難点がある。そこで本研究では、より簡便な方法を開発すべく、リンパ節浸漬液中の腫瘍マーカー測定による転移判定を検討した。すなわち大腸癌細胞に普遍性に高く発現している CEA に着目し、リンパ節浸漬液中の CEA を抽出・定量して転移判定を行った。

その結果、リンパ節を半割し生理食塩水中に 15 分浸漬させるだけで、十分な蛋白および CEA を抽出できることがわかり、病理組織学的に転移陽性と診断されたリンパ節からの抽出液中 CEA 値は、転移陰性のリンパ節のものと比べて有意に高値であることがわかった。また、リンパ節の CEA mRNA の RT-PCR 法を施行したところ、病理組織学的に転移陰性と診断されたリンパ節のうち RT-PCR にて陽性のものが認められたが、これらのリンパ節抽出液中 CEA 値はいずれも高値で、病理学的に診断できないような微小転移も診断可能であった。

以上、本研究は特殊な手技を用いることなく、一般病院においても微小転移をも含め、リンパ節転移の診断ができる簡便な方法を開発したもので、今後、術中迅速診断への応用の可能も高く、学位の授与に値すると考えられる。